

· 临床研究 ·

# 血清 AchRab 及补体在儿童重症肌无力中的水平及诊断价值

王立利, 张淑敏, 王红芳, 王维

唐山市妇幼保健院儿内科, 河北 唐山 063000

**摘要:** **目的** 探讨血清乙酰胆碱受体抗体(AchRab)及补体在儿童重症肌无力中的水平及诊断价值。**方法** 选择 2011 年 5 月至 2019 年 7 月诊治的重症肌无力患儿 80 例作为病例组,选择同期进行体检的健康儿童 80 例作为对照组。检测血清 AchRab、补体 3(complement 3, C3)含量和外周血 T 淋巴细胞亚群[CD4<sup>+</sup>(%), CD8<sup>+</sup>(%)]水平,记录患儿的重症肌无力量化评分(QMGS)并进行相关性分析。**结果** 病例组的血清 AchRab、干扰素(IFN)- $\gamma$ 、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$  含量高于对照组, C3 含量低于对照组, 差异有统计学意义( $P$  均  $< 0.01$ )。病例组的 CD4<sup>+</sup>(%) 高于对照组, CD8<sup>+</sup>(%) 低于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。病例组 QMGS 评分为 18 ~ 31 (24.19  $\pm$  2.18) 分。Pearson 相关分析显示, 在重症肌无力患儿中, QMGS 评分与 Osserman 分型、病程、AchRab、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、C3、CD4<sup>+</sup>T 细胞比例分别呈正相关性( $P$  均  $< 0.01$ ); Logistic 回归分析显示, AchRab、IFN- $\gamma$ 、C3 为儿童重症肌无力 QMGS 评分的独立影响因素( $P < 0.05, P < 0.01$ )。**结论** 血清 AchRab、C3 在儿童重症肌无力中呈异常增高, 且与患儿的病情密切相关, AchRab、IFN- $\gamma$ 、C3 为影响儿童重症肌无力病情的重要因素。

**关键词:** 重症肌无力, 儿童; 乙酰胆碱受体抗体; 补体 3; T 淋巴细胞亚群; 重症肌无力量化评分

**中图分类号:** R 593.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2020)10-1383-04

## Serum AchRab and complement in children with myasthenia gravis and its diagnostic value

WANG Li-li, ZHANG Shu-min, WANG Hong-fang, WANG Wei

Department of Pediatric Internal Medicine, Tangshan Maternal and Child Health Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China

**Abstract: Objective** To explore the levels of serum acetylcholine receptor antibody (AchRab) and complement and its diagnostic value in children with myasthenia gravis. **Methods** Eighty myasthenia gravis children treated from May 2011 to July 2019 were selected as case group, and 80 healthy children undergoing physical examination in the same period were served as control group. The levels of serum AchRab, complement 3 (C3) and peripheral blood T lymphocyte subsets [CD4<sup>+</sup>(%) and CD8<sup>+</sup>(%)] were detected, and quantitative myasthenia gravis score (QMGS) was recorded and analyzed to observe their relationship. **Results** The serum levels of AchRab, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  in case group were statistically higher than those in control group, and C3 content was lower than that in control group (all  $P < 0.01$ ). Compared with control group, CD4<sup>+</sup>T cells increased, and CD8<sup>+</sup>T cells decreased in case group ( $P < 0.05, P < 0.01$ ). In case group, QMGS was 18 to 31 (24.19  $\pm$  2.18) points. Pearson correlation analysis showed that QMGS was positively correlated with Osserman classification, disease course and levels of AchRab, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , C3 and CD4<sup>+</sup>T cell in myasthenia gravis children respectively (all  $P < 0.01$ ). Logistic regression analysis showed that AchRab, IFN- $\gamma$  and C3 were the independent factors influencing QMGS in children with myasthenia gravis ( $P < 0.05, P < 0.01$ ). **Conclusions** The abnormal levels of serum AchRab and C3 are abnormally high in myasthenia gravis children, which are closely related to the patient's condition. AchRab, IFN- $\gamma$ , and C3 are the important factors influencing myasthenia gravis children.

**Key words:** Myasthenia gravis, children; Acetylcholine receptor antibody; Complement 3; T lymphocyte subsets; Quantitative myasthenia gravis score

重症肌无力是一种自身免疫性疾病,是由于机体胸腺发育异常或其他原因产生乙酰胆碱受体抗体

(acetylcholine receptor antibody, AchRab), 破坏突触后膜运动终板上的乙酰胆碱受体(acetylcholine recep-

tor, AchR), 累及神经-肌肉接头, 从而诱发机体在临床上形成横纹肌无力症状<sup>[1-2]</sup>。该病多发生于青少年与儿童, 其发病机制主要涉及遗传因素和免疫因素, 特别是有自发免疫病倾向的个体极易患病, 可严重影响患儿身心健康, 并可以危及患儿生命<sup>[3-4]</sup>。当前临床对重症肌无力患儿的病情判断与预后预测多采用临床绝对记分法与相对记分法, 虽然有一定的效果, 但是具有比较大的主观性<sup>[5]</sup>。血清学检测 AchRAB 当前在临床上的应用比较多, 已被作为重症肌无力诊断和研究的一个重要指标<sup>[6-7]</sup>。补体在重症肌无力的发病过程中起着重要作用, 补体为正常血清中的单一组分, 单独的抗体或补体不引起细胞溶解现象; 但其可被抗原与抗体形成的复合物所活化, 从而产生细胞溶解现象<sup>[8-9]</sup>。补体 3 (complement 3, C3) 是补体系统激活途径的共同通路, AchR 抗体阳性的重症肌无力患者的严重程度与 C3 浓度呈负相关, 且在患儿病情好转后 C3 水平上升<sup>[10-11]</sup>。本研究具体探讨血清 AchRAB 及 C3 在儿童重症肌无力中的水平及诊断价值, 希望为重症肌无力的发病机制研究提供新的线索。现总结报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究获得所有入选者家属的知情同意, 医院伦理委员会也批准了此次研究。选择 2011 年 5 月至 2019 年 7 月诊治的重症肌无力患儿 80 例作为病例组, 纳入标准: 符合 2015 年中国免疫学会神经免疫学分会制定的重症肌无力诊断标准; 年龄 1~12 岁。排除标准: 入院前 3 个月内接收过免疫抑制剂治疗; 合并其他自身免疫性疾病。选择同期进行体检的健康儿童 80 例作为对照组, 经检查无重症肌无力及其他自身免疫性疾病史。两组儿童家长均同意接受各项检查的实施并签署同意书。

1.2 血清 AchRAB 及 C3 检测 采集所有儿童空腹静脉血 1~2 ml, 在室温下静止凝结后, 离心分离上层血清并进行分装, 贮存在 -80 °C 低温冰箱中。采用酶联免疫法检测血清 AchRAB、C3 含量, 检测试剂盒购自上海生工公司。同时检测血清干扰素 (IFN)- $\gamma$ 、肿瘤坏死因子 (TNF)- $\alpha$  含量; 采用流式细胞仪检测外周血 T 淋巴细胞亚群 [CD4<sup>+</sup> (%) 和 CD8<sup>+</sup> (%) ]。

1.3 病情评定 采用 Besinger 评分标准进行重症肌无力量化评分 (Quantitative Myasthenia Gravis Score, QMGS), 共有 13 个条目, 每个条目采用 3 级评分法, 分数越高, 病情越严重。

1.4 统计学方法 数据整理采用 Excel 2007 软件,

数据分析采用 SPSS 22.00 软件。以  $\bar{x} \pm s$  表示符合正态分布的计量资料, 两组均数比较采用成组 *t* 检验; 计数资料以百分比表示, 组间比较采用  $\chi^2$  分析; 相关性分析采用 Pearson 相关分析与 Logistic 回归分析。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般资料对比 两组儿童的性别、年龄、体重、身高对比差异无统计学意义 (*P* 均 > 0.05)。见表 1。在病例组中, 首发症状受累眼肌 42 例; Osserman 分型: I 型 33 例, II 型 37 例, III 型 10 例; 病程 3 个月 ~ 5 年, 平均 (2.41 ± 0.12) 年。

2.2 血清 AchRAB、C3 含量对比 病例组的血清 AchRAB、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  含量高于对照组, C3 含量低于对照组, 差异有统计学意义 (*P* 均 < 0.01)。见表 2。

2.3 T 淋巴细胞比例对比 病例组的 CD4<sup>+</sup> T 细胞比例高于对照组, CD8<sup>+</sup> T 细胞比例低于对照组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)。见表 3。

2.4 QMGS 评分及其影响因素的单因素分析 在病例组中, QMGS 评分最低 18 分, 最高 31 分, 平均 (24.19 ± 2.18) 分。Pearson 相关分析显示, 在病例组中, QMGS 评分与 Osserman 分型、病程、AchRAB、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、C3 水平和 CD4<sup>+</sup> T 细胞比例分别呈正相关性 (*P* 均 < 0.01)。见表 4。

2.5 影响 QMGS 评分的多因素 Logistic 回归分析 以 QMGS 评分作为因变量, 以 Osserman 分型、病程、AchRAB、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、C3、CD4<sup>+</sup> T 细胞比例作为自变量, Logistic 回归分析结果显示, AchRAB、IFN- $\gamma$ 、C3 为儿童重症肌无力 QMGS 评分的独立影响因素 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)。见表 5。

表 1 两组一般资料对比 (*n* = 80,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	男/女 (例)	年龄 (岁)	体重 (kg)	身高 (cm)
病例组	35/45	6.41 ± 0.14	26.20 ± 0.24	115.02 ± 9.84
对照组	34/46	6.38 ± 0.12	26.98 ± 1.02	116.87 ± 10.21
$\chi^2/t$ 值	0.025	0.078	0.723	0.183
<i>P</i> 值	0.874	0.967	0.333	0.894

表 2 两组血清 AchRAB、补体 C3、IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  含量对比 (*n* = 80, pg/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	AchRAB	C3	IFN- $\gamma$	TNF- $\alpha$
病例组	0.39 ± 0.03	0.87 ± 0.23	2.67 ± 0.22	0.42 ± 0.07
对照组	0.24 ± 0.10	2.65 ± 0.32	1.10 ± 0.31	0.21 ± 0.08
<i>t</i> 值	8.933	15.922	10.382	11.777
<i>P</i> 值	0.001	0.000	0.000	0.000

表 3 两组 T 淋巴细胞比例对比 (% ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	CD4 <sup>+</sup> T 细胞比例	CD8 <sup>+</sup> T 细胞比例
病例组	80	45.67 ± 2.14	23.76 ± 1.44
对照组	80	40.28 ± 2.56	27.09 ± 2.10
t 值		8.193	6.988
P 值		0.003	0.011

表 4 儿童重症肌无力的 QMGS 评分与血清 AchRab、补体与临床特征的相关性 (n = 80)

指标	Osserman 分型	病程	AchRab	IFN- $\gamma$	TNF- $\alpha$	C3	CD4 <sup>+</sup> T 细胞比例
r 值	0.566	0.610	0.689	0.710	0.513	0.671	0.588
P 值	0.004	0.000	0.000	0.000	0.006	0.000	0.003

表 5 影响儿童重症肌无力 QMGS 评分的多因素 Logistic 回归分析 (n = 80)

指标	$\beta$	SE	P 值	OR 值	95% CI
AchRab	1.302	0.842	0.012	4.853	1.883 ~ 10.924
IFN- $\gamma$	1.774	0.724	0.000	2.748	1.672 ~ 5.762
C3	1.672	0.913	0.000	2.194	1.772 ~ 5.014

### 3 讨论

重症肌无力是一种由 AchRab 介导的、细胞免疫依赖、补体参与的、主要累及神经肌肉接头的自身免疫性疾病<sup>[12]</sup>。该病在临床上主要表现为随意肌无力等症状,女性发病率高于男性。该病的病因和发病机制复杂,可能为遗传和环境多种因素共同作用的结果<sup>[13]</sup>。

本研究显示,病例组的血清 AchRab、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  含量高于对照组,C3 含量低于对照组,差异有统计学意义。从机制上分析,AchRab 介导的体液免疫反应和 T 细胞介导的细胞免疫反应是重症肌无力的主要发病机制,AchRab 水平往往与重症肌无力患儿病情呈正相关<sup>[14]</sup>。C3 在血清中的浓度依赖于 C3 的降解、合成及和其他蛋白结合的动态平衡,C3 的作用不仅包括膜攻击复合物介导的免疫损伤,可影响自身免疫疾病的发生,还对免疫系统有调节作用<sup>[15]</sup>。补体介导的突触后膜 AChR 破坏是重症肌无力的发病机制之一<sup>[16]</sup>。敲除 C3 基因的大鼠以 AChR 致敏后,无法表达 C3,也可降低 AchRab 水平,且与 B 细胞数量减少及细胞因子表达减少有关,提示 C3 基因缺陷还可通过对免疫系统的调节,使大鼠不易发生自身免疫反应。IFN- $\gamma$  主要由辅助性 T 细胞(Th)1 分泌,能够激活巨噬细胞;其也具有多种免疫调节功能,在诱导 B 细胞成熟并辅助其产生 AchRab 过程中发挥重要作用<sup>[17-18]</sup>。TNF- $\alpha$  为最常见的炎症因子,能使单克隆骨骼肌细胞系细胞数量及其表达的单核细胞趋化蛋白-1 水平显著增高,强化肌细胞的抗原提

呈能力,从而促进抗原特异性 Th1 细胞辅助产生 AChRab<sup>[19]</sup>。

胸腺是 T 细胞分化成熟的场所,也是重要的中枢免疫器官,来自骨髓的淋巴干细胞可在胸腺微环境中逐渐获得 CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞等膜分子而发育成熟,从而获得自身耐受性<sup>[20-21]</sup>。本研究显示病例组的 CD4<sup>+</sup>T 细胞比例高于对照组,CD8<sup>+</sup>T 细胞比例低于对照组,差异有统计学意义。从机制上分析,细胞免疫调节缺陷是重症肌无力的标志,在重症肌无力儿童中也涉及 T 细胞免疫介导的机制,免疫功能异常可能参与重症肌无力的发病<sup>[22]</sup>。

重症肌无力是在儿童中多发的神经肌肉疾病,以往的研究发现在不同的人群中,该病的临床表现与预后有一定的不同。本研究显示在病例组中,QMGS 评分为 18 ~ 31 (24.19 ± 2.18) 分;Pearson 相关分析显示 QMGS 评分与 Osserman 分型、病程、AchRab、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、C3、CD4<sup>+</sup>T 细胞比例分别呈正相关性;Logistic 回归分析显示,AchRab、IFN- $\gamma$ 、C3 为儿童重症肌无力 QMGS 评分的独立影响因素。C3 是一种由巨噬细胞和脂肪组织生成的急性反应性蛋白,在 AchRab 阳性的重症肌无力儿童 C3 浓度和病情与预后有一定关系<sup>[23]</sup>;C3 也可能通过调节免疫网络而导致重症肌无力的易感性或严重程度发生改变。补体系统也可通过经典激活途径、甘露聚糖结合凝集素途径、旁路激活途径等进行激活,从而形成攻膜复合物发挥生物学效应<sup>[24]</sup>。本研究也有一定的不足,研究时间跨度大,病例数过少,可能存在一定差异,将在后续研究中深入探讨。

综上所述,血清 AchRab、补体 C3 在儿童重症肌无力中呈现异常增高,与患儿的病情程度密切相关,AchRab、IFN- $\gamma$ 、C3 为影响儿童重症肌无力病情的重要因素。

### 参考文献

- [1] 冯苏,梁翠娟,潘婧,等.重症肌无力患者细胞和体液免疫指标变化及糖皮质激素治疗的效果[J].临床误诊误治,2019,32(7):72-76.
- [2] Li M, Ren L, Zhang YN, et al. Clinical characteristics of AchRab and MuSKAb double seropositive myasthenia gravis patients[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2018, 172:69-73.
- [3] Molin CJ, Westerberg E, Punga AR. Profile of upregulated inflammatory proteins in sera of Myasthenia Gravis patients[J]. Sci Rep, 2017, 7:39716.
- [4] Ohkubo A, Okado T, Sakurasawa T, et al. Removal characteristics of immunoadsorption with the tryptophan-immobilized column using conventional and selective plasma separators in the treatment of myasthenia gravis[J]. Ther Apher Dial, 2019, 23(3):271-278.

- [5] Qi GY, Gu SS, Liu P, et al. Effects of combined traditional Chinese medicine with immunosuppressive agents for patients with myasthenia gravis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(10):19044 - 19050.
- [6] Jiang XT, Chen GM, Huang JH, et al. Modified Buzhong Yiqi decoction for myasthenia gravis: a systematic review protocol[J]. *Medicine*, 2018, 97(50):e13677.
- [7] Castro D, Derisavifard S, Anderson M, et al. Juvenile myasthenia gravis: a twenty-year experience[J]. *J Clin Neuromuscul Dis*, 2013, 14(3):95 - 102.
- [8] Tüzün E, Christodoss P. Complement associated pathogenic mechanisms in myasthenia gravis[J]. *Autoimmun Rev*, 2013, 12(9):904 - 911.
- [9] Christodoss P, Tüzün E, Li J, et al. Classical complement pathway in experimental autoimmune myasthenia gravis pathogenesis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1132:210 - 219.
- [10] Krocza S, Stasiak K, Kaciński M. Neurophysiological parameters in myasthenia gravis in children in diagnostic and therapeutic view[J]. *Przegląd Lekarski*, 2016, 73(3):119 - 123.
- [11] 江志, 张洁, 杨理明, 等. 重症肌无力患儿血清 C3、C4 影响因素的研究[J]. *国际儿科学杂志*, 2018, 45(9):719 - 723.
- [12] 闫芳, 臧卫周, 孟祺, 等. 免疫球蛋白联合糖皮质激素治疗老年重症肌无力患者的临床观察[J]. *中华老年医学杂志*, 2018, 37(4):398 - 400.
- [13] 肖君, 张函, 何丹, 等. 儿童期重症肌无力临床特点及免疫指标变化[J]. *神经损伤与功能重建*, 2018, 13(6):289 - 291.
- [14] Takahagi A, Omasa M, Chen-Yoshikawa TF, et al. Anterior mediastinal tissue volume is correlated with antiacetylcholine receptor antibody level in myasthenia gravis[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2017, 155(6):2738 - 2744.
- [15] Ricciardi R, Melfi F, Maestri M, et al. Endoscopic thymectomy: a neurologist's perspective[J]. *Ann Cardiothorac Surg*, 2016, 5(1):38 - 44.
- [16] Paz ML, Barrantes FJ. Autoimmune attack of the neuromuscular junction in myasthenia gravis: nicotinic acetylcholine receptors and other targets[J/OL]. *ACS Chem Neurosci*, (2019-03-27). [https://www.onacademic.com/detail/journal\\_1000042284797999\\_0d8e.html](https://www.onacademic.com/detail/journal_1000042284797999_0d8e.html).
- [17] 热西达木·麦提提, 金海燕, 麦提提依明·外斯丁. 丙种球蛋白联用泼尼松治疗重症肌无力临床疗效及对炎症因子的影响[J]. *临床和实验医学杂志*, 2018, 17(11):1172 - 1175.
- [18] 张晖, 张鹏, 刘毅梅, 等. 胸腺瘤并发重症肌无力患者免疫调节因子的表达[J]. *中华胸心血管外科杂志*, 2017, 33(3):155 - 159.
- [19] Dalakas MC. Future perspectives in target-specific immunotherapies of myasthenia gravis[J]. *Ther Adv Neurol Disord*, 2015, 8(6):316 - 327.
- [20] Jing SS, Song Y, Song J, et al. Responsiveness to low-dose rituximab in refractory generalized myasthenia gravis[J]. *J Neuroimmunol*, 2017, 311(8):14 - 21.
- [21] Subías M, Tortajada A, Gastoldi S, et al. A novel antibody against human factor B that blocks formation of the C3bB proconvertase and inhibits complement activation in disease models[J]. *J Immunol*, 2014, 193(11):5567 - 5575.
- [22] 江志, 杨理明, 陈波, 等. 病程及补体水平对眼肌型重症肌无力患儿疗效的影响研究[J]. *中国全科医学*, 2016, 19(25):3055 - 3059.
- [23] Yi JS, Russo MA, Massey JM, et al. B10 cell frequencies and suppressive capacity in myasthenia gravis are associated with disease severity[J]. *Front Neurol*, 2017, 8:34.
- [24] 任应国, 张保朝, 贾东佩, 等. 四甲基吡嗪通过调节细胞因子和抗体水平缓解实验性自身免疫性重症肌无力大鼠的肌无力症状[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2016, 32(11):1471 - 1474, 1480.

收稿日期:2020-01-15 修回日期:2020-02-20 编辑:石嘉莹